

PUB-NO: WO009822157A1
DOCUMENT-IDENTIFIER: WO 9822157 A1
TITLE: COLLAGEN MATERIAL AND PROCESS FOR PRODUCING THE SAME
PUBN-DATE: May 28, 1998

INVENTOR-INFORMATION:

NAME COUNTRY
SHIMIZU, YASUHIKO JP

ASSIGNEE-INFORMATION:

NAME COUNTRY ASSIGNEE-INFORMATION:
TAPIC INTERNATIONAL CO JP LTD JP
SHIMIZU YASUHIKO

APPL-NO: JP09704205
APPL-DATE: November 19, 1997

PRIORITY-DATA: JP30885696A (November 20, 1996)

INT-CL (IPC): A61L027/00

EUR-CL (EPC): A61L031/00 , A61L027/00

ABSTRACT:

A collagen material comprising a laminate of a multilayer structure of an ultrafine fibrous nonwoven fabric of collagen sandwiched between nonfibrillated collagen layers; a filamentous material comprising the collagen material; a process for producing the same; and a medical material comprising the collagen material, particularly a medical film substitute comprising the medical material. These materials are produced from collagen without using synthetic polymer material, have such a property as to permit suturing while maintaining the biochemical characteristics inherent in collagen. Further, the medical film substitute can be used as a material for making up for a defective portion of a biological membrane, such as a dura mater, heart sac, pleura, peritoneum, or chorion, poses no moral problem, can be stably supplied, have no fear of infection, causes no denaturation of cells, can control the degradation rate after application to the organism, and can promote the regeneration of a biological membrane.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP97/04205

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER Int.Cl. ⁶ A61L27/00				
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC				
B. FIELDS SEARCHED				
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int.Cl. ⁶ A61L27/00				
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched				
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)				
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT				
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.		
Y	JP, 51-148289, A (Nippi, Inc.), December 20, 1976 (20. 12. 76) (Family: none)	1 - 12		
Y	JP, 2-71748, A (Terumo Corp.), March 12, 1990 (12. 03. 90) & EP, 403650, A & US, 5350583, A	1 - 12		
Y	JP, 4-266763, A (Terumo Corp.), September 22, 1992 (22. 09. 92) (Family: none)	1 - 12		
Y	JP, 6-292716, A (Yoshihiko Shimizu), October 21, 1994 (21. 10. 92) (Family: none)	1 - 12		
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.				
<table border="0"> <tr> <td> * Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed </td> <td> "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family </td> </tr> </table>			* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family			
Date of the actual completion of the international search January 21, 1998 (21. 01. 98)		Date of mailing of the international search report February 3, 1998 (03. 02. 98)		
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer		
Facsimile No.		Telephone No.		

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl ⁶ A61L27/00		
B. 調査を行った分野		
調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl ⁶ A61L27/00		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの		
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	J P, 51-148289, A (株式会社ニッピ)、20. 12月. 1976 (20. 12. 76) (ファミリーなし)	1-12
Y	J P, 2-71748, A (テルモ株式会社)、12. 3月. 1990 (12. 03. 90) & EP, 403650, A & US, 5350583, A	1-12
Y	J P, 4-266763, A (テルモ株式会社)、22. 9月. 1992 (22. 09. 92) (ファミリーなし)	1-12
Y	J P, 6-292716, A (清水慶彦)、21. 10月. 1994 (22. 09. 92) (ファミリーなし)	1-12
<input type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日	
21. 01. 98	03.02.1998	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 佐野 整 博 電話番号 03-3581-1101 内線 3452	4C 7019 印

様式PCT/ISA/210 (第2ページ) (1992年7月)



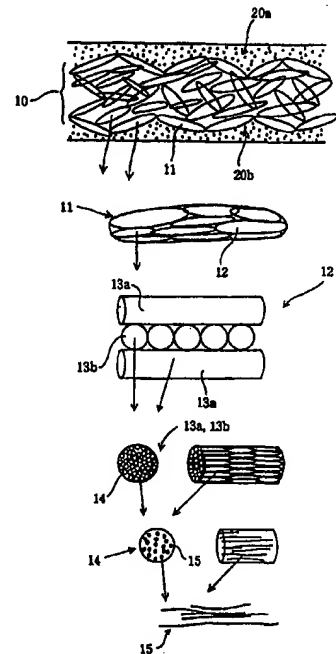
(51) 国際特許分類 A61L 27/00	A1	(11) 国際公開番号 WO98/22157 (43) 国際公開日 1998年5月28日 (28.05.98)
(21) 国際出願番号 PCT/JP97/04205 (22) 国際出願日 1997年11月19日 (19.11.97) (30) 優先権データ 特願平8/308856 1996年11月20日 (20.11.96) JP 特願平8/308857 1996年11月20日 (20.11.96) JP 特願平9/263374 1997年9月29日 (29.09.97) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 株式会社 タピック (TAPIC INTERNATIONAL CO., LTD.)[JP/JP] 〒105 東京都港区虎ノ門1丁目22番12号 SVAX TSビル Tokyo, (JP) (71) 出願人 ; および (72) 発明者 清水慶彦 (SHIMIZU, Yasuhiko)[JP/JP] 〒611 京都府宇治市木幡御蔵山39-676 Kyoto, (JP) (74) 代理人 弁理士 津国 肇 (TSUKUNI, Hajime) 〒105 東京都港区虎ノ門1丁目22番12号 SVAX TSビル Tokyo, (JP)	(81) 指定国 CA, CN, JP, KR, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). 添付公開書類 国際調査報告書	

(54) Title: COLLAGEN MATERIAL AND PROCESS FOR PRODUCING THE SAME

(54) 発明の名称 コラーゲン材及びその製法

(57) Abstract

A collagen material comprising a laminate of a multilayer structure of an ultrafine fibrous nonwoven fabric of collagen sandwiched between nonfibrillated collagen layers; a filamentous material comprising the collagen material; a process for producing the same; and a medical material comprising the collagen material, particularly a medical film substitute comprising the medical material. These materials are produced from collagen without using synthetic polymer material, have such a property as to permit suturing while maintaining the biochemical characteristics inherent in collagen. Further, the medical film substitute can be used as a material for making up for a defective portion of a biological membrane, such as a dura mater, heart sac, pleura, peritoneum, or chorion, poses no moral problem, can be stably supplied, have no fear of infection, causes no denaturation of cells, can control the degradation rate after application to the organism, and can promote the regeneration of a biological membrane.



PTO 2003-435

S.T.I.C. Translations Branch

(57) 要約

本発明は、コラーゲン超微細線維性不織布状多層体を非線維化コラーゲン層で挟んだ積層体からなるコラーゲン材、該コラーゲン材を含む糸状材料、及びこれらの製造方法、ならびに該コラーゲン材を含む医用材料、特に該医用材料からなる医用代替膜に関する。これらは、合成高分子材料を併用せずに、コラーゲンを原料とし、コラーゲンが本来有する生化学的特性を保持しながらも、縫合可能な程度の物性を有し、更に医用代替膜は、脳硬膜、心膜、胸膜、腹膜又は漿膜など生体膜の欠損部分を補填する材料として使用することができ、倫理上の問題もなく、安定して供給され、感染の恐れがなく、細胞の変性を起こさず、生体への適用後の分解速度をコントロールでき、生体膜に対して再生促進作用を有する。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード (参考情報)

AL	アルバニア	FI	フィンランド	LT	リトアニア	NZ	ニュージーランド
AM	アルメニア	FR	フランス	LU	ルクセンブルグ	SD	スーダン
AT	オーストリア	GB	イギリス	LV	ラトヴィア	SG	シンガポール
AU	オーストラリア	GE	グルジア	MC	モナコ	SI	スロベニア
AZ	アゼルバイジャン	GH	ガナ	MD	モルドバ	SK	スロバキア
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GM	ガンビア	MG	マダガスカル	SL	シエラレオネ
BB	バルバドス	GN	ギニア	MK	マケドニア共和国		
BE	ベルギー	GW	ギニア・ビサウ	ML	マリ		
BG	ブルガリア	HR	クロアチア	MN	モンゴル		
BJ	ベナン	HU	ハンガリー	MR	モーリタニア		
BR	ブラジル	ID	インドネシア	MW	マラウイ		
BS	バハマ	IE	アイルランド	MX	メキシコ		
CA	カナダ	IL	イスラエル	NE	ニジェール		
CF	中央アフリカ共和国	IS	アイスランド	NL	オランダ		
CG	コンゴ	IT	イタリア	NO	ノルウェー		
CH	スイス	JP	日本	NZ	ニュージーランド		
CI	コートジボワール	KE	ケニア	PL	ポーランド		
CM	カメルーン	KR	韓国	PT	ポルトガル		
CN	中国	KP	北朝鮮	RO	ルーマニア		
CU	キューバ	KR	韓国	RU	ロシア		
CY	キプロス	KZ	カザフスタン	SD	スーダン		
CZ	チェコ	LC	セントルシア	SE	スウェーデン		
DE	ドイツ	LI	リヒテンシュタイン	SG	シンガポール		
DK	デンマーク	LK	スリランカ	SI	スロベニア		
EE	エストニア	LS	レソト	SK	スロバキア		
ES	スペイン			SL	シエラレオネ		

明 細 書

コラーゲン材及びその製法

技術分野

- 5 本発明は、コラーゲン超微細線維性不織布状多層体を非線維化コラーゲン層で挟んだ積層体からなるコラーゲン材、該コラーゲン材を含む糸状材料、及びこれらの製造方法、ならびに該コラーゲン材を含む医用材料、特に該医用材料からなる医用代替膜に関する。

10

背景技術

- 医用材料として用いられる各種素材のうち動物由来のコラーゲンは、生体親和性及び組織適合性に優れ、抗原性が低く、宿主細胞の分化・増殖を促進させる作用を有し、止血作用を有し、生体内で完全に分解吸収されることから、医用材料の素材として特に
- 15 優れた特性を有している。動物由来のコラーゲンとしては、現在、I～XIX型までが発見されており、このうちI～V型コラーゲンが、医用材料として多様な方法で使用されている。なかでも細胞外マトリックスとして有用なI型コラーゲンが最も多く使用されている。
- 20 これらのコラーゲンは、ウシ、ブタ、トリ、カンガルーなどの動物の皮膚、骨、軟骨、腱、臓器などの各種器官の結合組織から、酸可溶化法、アルカリ可溶化法、中性可溶化法、酵素可溶化法などによって抽出及び精製されたものである。従来使用されている抽出コラーゲンは、分子レベルでは、モノマー～オリゴ

マー程度にまで分解されたものであり、粉末状又は液状で保存される。これらの抽出コラーゲンは、コラーゲン分子がモノマー〜オリゴマー程度に分解された状態であるため、水、体液又は血液などと接触すると、極めて早くゾル化してしまう。このため、これら5 のコラーゲンを医用材料として成形して用いる際には、加工時にある程度の強度を持たせるために、ナイロン、シリコーンなどの合成高分子材料の表面をコラーゲンで被覆して使用するか、あるいは生体に適用した場合にある程度の期間その形状を保持させるために、抽出コラーゲンの成形物を、架橋剤による化学的架橋10 処理、あるいは、放射線、電子線、紫外線、又は熱などによる物理的架橋処理に付して使用している。また、これらの抽出コラーゲンは、糸状に加工されて、医療用の糸としても使用されるが、その紡糸には、湿式紡糸法が採用されている。

しかし、コラーゲンを合成高分子材料と組み合わせた材料の場合、15 合成高分子材料が生体内に異物として残存し、肉芽形成、炎症などの障害を引き起こし易く、また、このような材料を全ての細胞や臓器に適用することはできない。また、コラーゲン材料に架橋処理を行っても、コラーゲン材料の物性、特に引き裂き強度はほとんど上昇しないため、これを加工して、縫合を必要とする20 医用材料にすることは不可能であった。また、グルタルアルデヒド又はエポキシなどの架橋剤を用いると、架橋剤自体の生体に対する毒性が問題になるばかりでなく、コラーゲンが本来有する生化学的特性、特に、細胞増殖に対する促進効果が失われるという欠点もある。また物理的架橋処理では、架橋率が不安定で、十

分な物性を付与することができず、また生体内での吸収速度をコントロールできるよう架橋処理することも困難であった。一方、紡糸したコラーゲンも、十分な強度を有さないため、縫合糸としては不十分であった。

- 5 また一方、各種疾患又は外傷などのため、脳や、各種臓器の外科手術を行い、術創を閉じる際に、切開した脳硬膜、心膜、胸膜、腹膜又は漿膜などを再縫合して閉鎖する必要があるが、縫いしろによる短縮分が生じたり、膜が部分的に切除されるために術創を完全に閉鎖しきれず、膜に欠損部が生じることが多い。このような欠損部をそのまま放置すると、膜の欠損した箇所から脳、心臓、肺、腸などの臓器が脱出して重大な障害をおこしたり、臓器や臓器周辺から水や空気が漏出して術創が治癒しない。また臓器が周囲の組織との癒着を起こすため、組織が損傷し、良好な予後が得られない。このため従来は、この欠損部分の補填材として使用する
- 10 ことのできる医用代替膜として、死体より採取した凍結乾燥ヒト脳硬膜や、多孔性の延伸ポリテトラフルオロエチレンフィルム材（E P T F E）（組織用ゴアテックス、登録商標）、ポリプロピレンメッシュ、テフロンシート、ダクロンシートなどが使用されており、また乳酸とε-カプロラクトンとの共重合体（50：
- 15 50）が現在開発されつつある。また自己の大腿筋膜や自己の心膜、皮膚、筋肉などを用いる方法もやむなく行われている。
- 20

しかし、ヒト脳硬膜の使用については、補填したヒト脳硬膜と脳実質組織とが癒着を生じ、術後にテンカンの発作を惹起する恐れがあるという難点があるばかりでなく、ヒトの死体から採取す

るという倫理上の問題や、供給量が非常に限定されているという問題があり、更にまた最近では、脳硬膜を移植された患者における、移植脳硬膜が原因の Creutzfeldt-Jakob Disease (C J D) の発生が報告され (脳神経外科、21(2):167-170, 1993)、日本では、現在はヒト脳硬膜は使用されていない。また、E P T F E 材などは、生体内で分解されず、異物として残存するため、感染をおこしやすく、また生体組織と接触すると、組織細胞が脂肪変性を起こしてしまうなど、術後合併症を起こすことが多いことが知られている。乳酸と ϵ -カプロラクトンとの共重合体は、生体内分解性であり、生体への適用後、徐々に分解するが、分解吸収されるまでにほぼ2年という長期間を要する。そのため、やはり異物として生体内にしばらくの間残存して、分解過程で組織に炎症を惹起し、肉芽腫を形成することがある。この共重合体はモノマーとして、(L) 体の乳酸を使用しているため、共重合体中で乳酸が結晶化して、炎症を惹起することがある。更に、E P T F E、乳酸と ϵ -カプロラクトンとの共重合体のいずれにも、生体膜の再生を促す作用はない。また自己の大腿筋膜などを用いる方法は患者、医師の両方にとって大きな負担である。

心膜の補填材としては、上記のE P T F E、ポリプロピレンメッシュ (マーレックス)、ヒト乾燥脳硬膜、グルタルアルデヒド (G A) 処理ウシ心膜などが従来用いられてきたが、E P T F E とヒト乾燥脳硬膜は上述の欠点を有する。また、ポリプロピレンメッシュは、心臓との間に強い癒着を起こす。G A 処理ウシ心膜は、生体内で吸収分解されずに残存するため、石灰沈着による劣

化を起こし、またウシ心膜に対する免疫反応による間質性肺炎の合併症が観察されている。

5 また肺手術後の手術箇所からの空気漏れを軽減するために、ポリグリコール酸不織布やウシ心膜が、胸膜補填材として、又はオートスーチャー用に使用されているが、ポリグルコール酸は強い癒着を起こし、また不透明であるためオートスーチャーでは使用しにくい。またウシ心膜は、上述したような欠点を有する。

10 上記の理由から、合成高分子材料を併用せずに、コラーゲンを原料とし、コラーゲンが本来有する生化学的特性を保持しながらも、縫合可能な程度の物性を有し、更に生体への適用後もある程度の期間その形状を保持することのできるコラーゲン材、その製造方法、及びそれに基づく医用材料、例えば、末梢神経管、人工脊髄、人工食道、人工気管、人工血管、人工弁、代替脳硬膜などの人工医用代替膜、人工靱帯、人工腱、外科用縫合糸、外科用補
15 填材、外科用補強材、創傷保護材、人工皮膚、又は人工角膜などの開発が求められてきた。そして各種医用材料のなかでも特に、倫理上の問題もなく、安定して供給され、生体への適用後は、術後の術創の癒着を防止し、感染の恐れがなく、組織の変性を起こさず、適用後の分解速度をコントロールでき、更に生体膜、特に
20 脳硬膜、心膜、胸膜、腹膜又は漿膜に対して再生促進作用がある、医用代替膜として使用することができる材料の開発も臨床現場で強く求められてきた。

発明の開示

本発明者は、上記課題を解決するために鋭意研究した結果、コ
ラーゲン超微細線維性不織布状多層体を非線維化コラーゲン層で
挟んだ積層体からなるコラーゲン材が、医用材料として特に優れ
た特性を有するとともに、縫合可能な物性を有することを見いだ
5 して本発明を完成した。すなわち、本発明は、コラーゲン超微細
線維性不織布状多層体を非線維化コラーゲン層で挟んだ積層体か
らなるコラーゲン材に関する。本発明はまた、コラーゲン溶液層
を凍結し；凍結乾燥して微細線維化コラーゲン層とし；圧縮し；
コラーゲン溶液に浸漬・風乾する工程を繰り返す；そして架橋処
10 理に付すことを特徴とする、上記コラーゲン材の製造方法に関す
る。本発明は、更にまた、コラーゲン超微細線維性不織布状多層
体を非線維化コラーゲン層で挟んだ積層体からなるコラーゲン材
を含む糸状材料、及びコラーゲン溶液を湿式紡糸してコラーゲン
糸を得；コラーゲン糸を凍結し；凍結乾燥し；コラーゲン糸を圧
15 縮し；コラーゲン溶液に浸漬・風乾する工程を繰り返す；そして
架橋処理に付すことを特徴とする、上記糸状材料の製造方法に関
する。本発明は、更にまた、コラーゲン超微細線維性不織布状多
層体を非線維化コラーゲン層で挟んだ積層体からなるコラーゲン
材を含む医用材料、該医用材料からなる医用代替膜、特にその片
20 面又は両面に架橋処理されたゼラチンゲル層又はヒアルロン酸層
を有する医用代替膜に関する。

図面の簡単な説明

第1図は、本発明のコラーゲン材の構造を示す。

第2図～第5図は、本発明のコラーゲン材の各線維の形状を示す電子顕微鏡写真である。

発明を実施するための最良の形態

- 5 図1は、本発明のコラーゲン材の構造を図示したものである。
本コラーゲン材においては、コラーゲン分子数個からなる直径約
5 nm の超微細線維15が基本単位となって、直径約50 nm の微
細線維14を形成し、これが次に直径約2 μ m の細線維13a、
13bを形成している。この細線維13a、13bが図に示すよ
10 うに、縦糸と横糸として交互に重なりあって直径約6 μ m の線維
12を形成し、次にこれが同軸方向に重なりあって直径約20～
50 μ m の板状線維11を形成する。そしてこの板状線維11が
コラーゲン超微細線維性不織布状多層体10を形成し、その外側
に、コラーゲン分子がモノマー～オリゴマーの状態で分散してい
15 る非線維化コラーゲン層20a及び20bが存在し、更に本不織
布状多層体の板状線維の間にもコラーゲン分子が入り込んでいる。
図2は、本発明のコラーゲン材の断面の電子顕微鏡写真である。
図3は、細線維13aと13bが交互に重なりあって形成した線
維12を示す。図4は、超微細線維15と、これが基本となって
20 形成される微細線維14を示す。図5は、超微細線維15を示す。

本発明のコラーゲン超微細線維性不織布状多層体を非線維化コ
ラーゲン層で挟んだ積層体からなるコラーゲン材の原料として使
用するコラーゲンとしては、従来から用いられている各種コラー
ゲン、好ましくは中性可溶化コラーゲン、酸可溶化コラーゲン、

アルカリ可溶化コラーゲン、又は酵素可溶化コラーゲンを使用することができる。これらのうち、酵素可溶化コラーゲンは、不溶性コラーゲンを、酵素（例えば、ペプシン、トリプシン、キモトリプシン、パパイン、プロナーゼなど）処理したもので、これらの処理によりコラーゲン分子中の抗原性の強いテロペプチド部分が除去されて抗原性が低減されるので、特に好ましい。これらコラーゲンの由来は、特に限定されず、一般に、ウシ、ブタ、ウサギ、ヒツジ、カンガルー、鳥、魚などの動物の皮膚、骨、軟骨、腱、臓器などから抽出及び精製によって得られるⅠ型コラーゲン、又はⅠ型及びⅢ型の混合コラーゲンをを用いることができる。

上述したような超微細線維構造を有する本発明のコラーゲン材を、従来各種医用材料として使用されてきた、コラーゲン分子がモノマー～オリゴマーの状態で分散しているアモルファス構造の非線維化コラーゲンのみからなる材料と比較すると、前者は、コラーゲンが本来有する生体に対する作用は保持しながらも、後者に比べて、優れた物性、特に優れた引き裂き強度を有するばかりでなく、生体内での吸収速度も十分に延長されている。また、本発明のコラーゲン材を含む糸状材料は、コラーゲン超微細線維性不織布状多層体を非線維化コラーゲン層で挟んだ積層体からなるコラーゲン材の糸状の形態のものであり、また、本発明のコラーゲン材を含む医用材料は、コラーゲン超微細線維性不織布状多層体を非線維化コラーゲン層で挟んだ積層体からなるコラーゲン材を、各種医用材料に加工したものである。医用材料の形態としては、膜状、円筒状、袋状、塊状などが挙げられる。本医用材料の

用途としては、特に医用代替膜を挙げることができ、更に特にその片面又は両面に架橋処理されたゼラチンゲル層又はヒアルロン酸層を有する医用代替膜を好適に挙げることができる。この場合のその厚さは、好ましくは約 0.1 ～ 5 mm である。

- 5 本発明の医用代替膜がその表面に有していることのできるゼラチンゲル層は、ゼラチンの有する、細胞の接着及び増殖を妨げる作用のため、癒着を防止する必要がある箇所において、周辺の生体組織からの細胞の伸展を防ぐための癒着防止層として作用する。また、ヒアルロン酸は、コラーゲンの安定性を向上させる効果を
- 10 有し、また癒着防止能も有する。本発明の医用代替膜では、生体に適用後、約 3 ～ 4 週間、ゼラチンゲル層又はヒアルロン酸層が分解吸収されずに残存する必要があるため、このゼラチンゲル層又はヒアルロン酸層もまた、架橋処理されている。

- 本発明のコラーゲン超微細線維性不織布状多層体を非線維化コ
- 15 ラーゲン層で挟んだ積層体からなるコラーゲン材を調製するには、上記のような抽出及び精製後のコラーゲンの約 1 N 塩酸溶液（pH 約 3）（コラーゲン濃度は、好ましくは約 0.5 ～ 3 重量％、特に約 1 重量％）を調製し、流し込みなどの慣用の方法にて、シャーレなどの容器に、液層が任意の均一な厚さとなるようコラーゲン
- 20 塩酸溶液の層を形成する。コラーゲン塩酸溶液の層の厚さは、本発明のコラーゲン材の用途に応じて決定するが、例えば医用代替膜である脳硬膜として使用する場合、好ましくは約 1 ～ 5 cm、特に約 1 ～ 3 cm とする。これを、好ましくは約 -10 ～ -196℃、特に約 -20℃で、少なくとも約 6 時間、好ましくは約 6 ～ 48 時

間、特に約 2 4 時間凍結する。凍結することによって、塩酸溶液中に分散しているコラーゲン分子の間に微細な氷が形成され、コラーゲン塩酸溶液が層分離を起こし、コラーゲン分子が再配列することによって微細線維化する。凍結時間が 6 時間未満であると、

5 コラーゲン塩酸溶液が十分に凍結しないため、コラーゲン分子の微細線維化が不十分であり、十分な物性が得られない。次に、上記の凍結させたコラーゲン塩酸溶液を、真空下、好ましくは約 -40 ~ -80℃、特に約 -80℃で、好ましくは約 24 ~ 48 時間、特に約 48 時間凍結乾燥する。凍結乾燥することによって、

10 コラーゲン分子間の微細な氷が気化するとともに、コラーゲン分子からなる超微細線維が基本単位となって、上述したような微細線維、細線維、線維、板状線維が構成する不織布状のコラーゲン層が得られる。

次に、上記で得られた不織布状のコラーゲン層を、プレス装置

15 を用いて均一の厚さに圧縮する。圧縮することによって、本発明のコラーゲン材の生体内での残存期間がコントロールされる。例えば、1 重量%コラーゲン塩酸溶液を用いた場合、圧縮比が 30 ~ 60 の範囲で、例えば 200 kg/cm² の圧力で 15 秒間圧縮を行う。次に、圧縮後のコラーゲン層を、コラーゲン塩酸溶液に浸漬し、

20 風乾する。この浸漬・風乾の工程を、5 ~ 20 回繰り返す。ここで用いるコラーゲン塩酸溶液は、抽出及び精製後のコラーゲン約 0.5 ~ 3 重量%、特に約 2 重量%を、約 1 N 塩酸に含む、コラーゲン分子がモノマー~オリゴマーの状態で分散している非線維化コラーゲンの溶液であり、このコラーゲン溶液に圧縮後のコラー

ゲン層を浸漬することにより、不織布状のコラーゲン層の板状線維の間に、コラーゲン溶液中に分散しているコラーゲン分子が入りこみ、これによってアンカリング効果が発揮され、強度が付与されるとともに、水に対する安定性も増す。この浸漬・風乾の工程の回数は5～20回が適当であるが、本発明のコラーゲン材の用途に応じて、この範囲で適宜決定することができる。次に、浸漬・風乾後のコラーゲン層を架橋処理に付して、本発明のコラーゲン超微細線維性不織布状多層体を非線維化コラーゲン層で挟んだ積層体からなるコラーゲン材を得る。架橋処理に付すことによって、本発明のコラーゲン材を含む医用材料を生体への適用後、所望の期間残存させるように調節する。架橋度をコントロールしやすく、架橋剤の生体への影響が問題とならない熱脱水架橋を行うのが好ましい。熱脱水架橋のためには、上記で得られた浸漬・風乾後のコラーゲン層を、真空下、好ましくは約105～150℃、特に約140℃で、好ましくは約6～48時間、特に約24時間加熱する。約105℃未満では十分な架橋反応が起きない。約150℃を超えるとコラーゲンが変性してしまう。次に、必要であれば上記の工程で得られた本発明のコラーゲン材を、エチレンオキシドガス処理又は紫外線もしくはγ線照射などにより滅菌する。以上のようにして製造された本発明のコラーゲン材は、乾燥状態で少なくとも約23N、特に45N以上の一点支持張力及び少なくとも約170N、特に230N以上の耐破断張力、湿潤状態で少なくとも2N、特に6N以上の一点支持張力、及び少なくとも12N、特に23N以上の耐破断張力を有し（比重

0.74 g/cm³のコラーゲン材で厚さ1 mmの場合)、従来のコラーゲン材と比べて優れた強度を有するため、各種医用材料に加工することができ、縫合も可能である。また生体内に適用された場合に約3～8週間その形状を保持することができる。更に、コラーゲンが本来有する医用材料としての特性も保持している。

本発明のコラーゲン材は、優れた強度を有するため、手術用縫合糸としても使用することができる。本発明のコラーゲン材を含む糸状材料は、以下の様に調製することができる。抽出及び精製後のコラーゲンの約1 N 塩酸溶液 (pH 約3) (コラーゲン濃度は、好ましくは約0.5～3重量%、特に約1重量%) を調製し、これを孔径が好ましくは約50～300 μm、特に約100 μm のノズルから凝固浴中に噴出させることによって湿式紡糸し、得られたコラーゲン糸を、上記と同じ条件で凍結及び凍結乾燥して、コラーゲン糸を形成する。次に、本コラーゲン糸を、上記と同じ条件で圧縮する。次にコラーゲン塩酸溶液 (約2重量%、約1 N 塩酸) に浸漬・風乾する。この工程を5～20回繰り返す。次にこれを、上記と同様の条件下で架橋処理に付すことによって、本発明のコラーゲン材を含む糸状材料を得ることができる。

上記のように調製した本発明のコラーゲン材を、その片面又は両面に架橋処理されたゼラチンゲル層又はヒアルロン酸層を有する医用代替膜に加工する場合、ゼラチンゲル層の場合では、好ましくは約2～70重量%、特に約60重量%のゼラチン水溶液を用いてゼラチンゲル層を形成するが、約60重量%のゼラチン水溶液を用いる場合、湿潤時で好ましくは約0.1～5 mm、特に約

1 mm、乾燥時で好ましくは約 0.06 ~ 3 mm、特に約 0.6 mm になるように、ゼラチンゲル層を形成する。ゼラチンゲル層は、塗布、浸漬などどのような方法によって形成してもよいが、例えば、シャーレなどの容器にゼラチン水溶液を注入して必要な厚さになるようにし、その上に上記のようにして得た本発明のコラーゲン材を置いて放置し、ゼラチンをゲル化させる。その両面にゼラチンゲル層を形成する場合は、もう一方の面についても、同様の処置を行って、両面にゼラチンゲル層を形成させる。

次に、このようにして得たその片面又は両面にゼラチンゲル層を形成させたコラーゲン材を、第 2 の架橋処理に付す。架橋処理を行うことによって、ゼラチンゲル層の分解吸収速度をコントロールする。架橋方法としては、上述と同様の理由で、熱脱水架橋が好ましい。ゼラチンゲル層を生体に適用後約 3 ~ 4 週間残存させるには、上記のゼラチンゲル層を形成させたコラーゲン材を、真空下、好ましくは約 105 ~ 150 °C、特に約 140 °C で、好ましくは約 6 ~ 48 時間、特に約 24 時間熱脱水架橋処理に付す。約 105 °C 未満では、架橋反応が十分に起きず、約 150 °C を超えると、コラーゲンが変性してしまう。

このようにして形成された架橋処理されたゼラチンゲル層は、各生体膜が再生するまで、本医用代替膜のコラーゲン部分が周辺組織と癒着するのを防止する役割を有し、膜欠損部の周辺から生体膜が伸びて再生して、膜の欠損部分を塞ぐまでの約 3 ~ 4 週間、ゼラチンゲル層は分解吸収されずに残存する。

ヒアルロン酸層を形成する場合は、好ましくは約 0.5 ~

2. 0 mg/ml、特に約 1. 0 mg/ml のヒアルロン酸ナトリウム水溶液を用いて、上記のようにして得た本発明のコラーゲン材の片面又は両面に、塗布又は浸漬などの方法によって、ヒアルロン酸ナトリウム水溶液層を形成し、この水溶液層を風乾することによってヒアルロン酸層とする。ヒアルロン酸ナトリウム水溶液層は、修復すべき膜の欠損部分の周辺から生体膜が伸びて再生して、膜の欠損部分を塞ぐまでの約 3 ～ 4 週間ヒアルロン酸層が分解吸収されずに残存することができるよう、湿潤時で好ましくは約 0. 5 ～ 4. 0 mm、特に約 2 mm、乾燥時で好ましくは約 0. 1 ～ 2. 0 mm、特に約 1. 0 mm の厚さとなるように形成する（約 1. 0 mg/ml の水溶液の場合）。コラーゲン材の表面にヒアルロン酸を固定して、ヒアルロン酸層とするために、更に第 2 の架橋処理を行うが、ヒアルロン酸の場合は、水溶性カルボジイミド（W S C）で架橋処理を行うのが好ましい。この場合、ヒアルロン酸ナトリウム水溶液にあらかじめ W S C を混合しておき、ヒアルロン酸ナトリウムと共に、コラーゲン材に適用することによって、コラーゲンのカルボキシル基とヒアルロン酸のアミノ基とを架橋させることが好ましい。ヒアルロン酸ナトリウム水溶液に含有させる W S C の濃度は、好ましくは約 5 ～ 20 mg/ml、特に約 8 ～ 15 mg/ml とする。このヒアルロン酸ナトリウム及び W S C を含有する水溶液を調製し、十分に攪拌し、厚さが好ましくは約 1 mm となるように、コラーゲン材の両面又は片面に塗布し、風乾して、ヒアルロン酸層を形成する。

上記のように調製した本発明のコラーゲン材は、従来の抽出コ

ラーゲン材料に比べて、優れた物性、特に優れた引き裂き強度を有するため、合成高分子材料などに積層せずにそのみで、各種医用材料に加工することができ、縫合することもできる。また、本発明のコラーゲン材は、生体内に適用した場合、すぐには溶解せず、約3～8週間その形状を保持することができる。これらの理由から、本発明のコラーゲン材は、更に用途に応じて膜状、円筒状、袋状、塊状などの形態に加工することによって、各種医用材料として使用することができる。例えば、末梢神経管、人工脊髄、人工食道、人工気管、人工血管、人工弁、代替脳硬膜などの人工医用代替膜、人工靱帯、人工腱、外科用縫合糸、外科用補填材、外科用補強材、創傷保護材、人工皮膚、又は人工角膜などとして使用して、傷害を受けた生体組織が回復、再生するのを促すことができる。あるいは、圧迫止血材、あるいは細胞培養における三次元培地としても使用することができる。

また、上記のようにして得られた本発明の医用材料からなる医用代替膜は、各種外科手術後の膜欠損部分を補填することによって、膜欠損部分における臓器と周辺組織との癒着を予防するために使用することができる。本発明の医用代替膜においては、癒着を防止する必要がある周辺組織と接する側に架橋したゼラチンゲル層又はヒアルロン酸層が向くように、その片面又は両面にゼラチンゲル層又はヒアルロン酸層を形成した本発明の医用代替膜を使用する。本医用代替膜を、心膜の代替膜として使用する場合は、両面にゼラチンゲル層又はヒアルロン酸層を形成した代替膜を、また胸膜、腹膜又は漿膜の代替膜として使用する場合は、片面に

ゼラチンゲル層又はヒアルロン酸層を形成した代替膜を、ゼラチンゲル層又はヒアルロン酸層が周辺組織と接する側に向くように使用する。脳硬膜の代替膜として使用する場合は、両面又は片面にゼラチンゲル層又はヒアルロン酸層を形成した代替膜のいずれも使用することができる。片面にゼラチンゲル層又はヒアルロン酸層を形成した代替膜を使用する場合は、ゼラチンゲル層又はヒアルロン酸層が、脳実質組織と接する側に向くように使用する。更にまた、上記の用途のほか、血管、消化管、気管、尿管、膀胱、粘膜、歯根膜などの縫合に、補強材としても使用することができる。

上記のように生体膜の欠損部分を補填する材料としての本発明の医用代替膜は、脳硬膜、心膜、胸膜、腹膜又は漿膜の代替膜として使用することができる。本代替膜を術創に適用すると、術創周辺に残存している脳硬膜、心膜、胸膜、腹膜又は漿膜などの生体膜が、本代替膜との接触箇所から本代替膜のコラーゲン部分を再生の足場として伸展して再生する一方、生体組織がゼラチンゲル層又はヒアルロン酸層と接する箇所では、細胞の侵入・伸展が予防されるために癒着が防止され、最終的には欠損部分が、再生した生体膜によって塞がれ、本代替膜は、生体によって分解吸収され、完全に消失する。

上述のように、本発明のコラーゲン材、及び本発明のコラーゲン材を含む医用材料、特に医用代替膜は、従来のコラーゲン材及びそれを含む医用材料に比べて、優れた引き裂き強度を有するが、本医用材料を、例えば人工膀胱などとして使用する際には、更に

強度が必要とされる場合がある。このため、必要な場合には、本発明のコラーゲン材、及び本発明のコラーゲン材を含む医用材料は、その内部に生体内分解吸収性材料からなるシート状のメッシュ様中間材を有していてもよい。生体内分解吸収性材料としては、

5 ポリグリコール酸、ポリ乳酸、グリコール酸と乳酸の共重合体、ポリジオキサノン、グリコール酸とトリメチレンカーボネートの共重合体、又はポリグリコール酸とポリ乳酸の混合物を挙げることができる。これらの材料からなるシート状のメッシュ様中間材は、例えば約 50 ～ 2,000 μm の孔径を有する、例えば

10 メッシュシート、織布、不織布、パンチ穴を形成したシートなどの形態であり、その厚さは、例えば約 100 ～ 2,000 μm であるが、メッシュ様中間材の孔径とその厚さは、用途に応じて適宜変更することができる。

このような、その内部に生体内分解吸収性材料からなるシート状のメッシュ様中間材を有するコラーゲン材を調製するには、

15 コラーゲン超微細線維性不織布状多層体を形成する際にコラーゲンの塩酸溶液に上記のようなシート状のメッシュ様中間材を浸したまま、コラーゲン塩酸溶液層を、凍結、凍結乾燥などの以降の工程に付せばよい。

20 以下に本発明を実施例により説明する。

実施例 1.

豚皮由来のコラーゲンを用いて、1 重量%コラーゲンの 1N 塩酸溶液を調製し、シャーレに注いで、それぞれ 6、12 及び 18 mm の厚さのコラーゲン溶液層とした。これを、 -20°C で 24 時間

凍結し、次に -80°C で24時間凍結乾燥した。次にプレス機を用い、 200 kg/cm^2 の圧力で室温で15秒間熱圧縮して、それぞれ約0.2、0.3、及び0.5 mmの厚さの層とした。上記の
5 同じコラーゲンを原料とする2重量%コラーゲンの1N塩酸水溶液を調製し、上記で得られた圧縮したコラーゲンの層を、コラーゲン溶液に浸漬し、風乾した。この浸漬・風乾の工程を5回又は10回繰り返す、次に、真空下、 140°C で24時間熱架橋処理に付して、本発明のコラーゲン材を得た。

上記で調製した本発明のコラーゲン材について、以下に記載する
10 方法により、その一点支持張力と耐破断張力を乾燥状態及び湿潤状態で測定した。

大きさ $15 \times 40\text{ mm}$ の短冊型の試験片を作製した。以下の方法で 25°C 、湿度50%の恒温恒湿室中でデジタルプッシュプル
15 ゲージ（AIKOH ENGINEERING 製CPUゲージ）を用いて試験片の長軸方向にISOのB速度（ 5 mm/min ）で均一に張力をかけ、膜が破断するまでの最大張力を乾燥状態及び湿潤状態（ 37°C の生理食塩水中で1分間の水和を行ったもの、又は室温の生理食塩水中で24時間の水和を行ったもの）の両方で測定した。

1. 一点支持張力

20 試験片の片端の中央より5 mm内側の部位を糸（4-Oプロリン又は2デキソン）で縫合固定し、他方の端はクリップで均一に把持して張力をかけた。

2. 耐破断張力

試験片の両端をクリップで均一に把持して張力をかけた。

結果を以下に示す。

コラーゲンの塩酸溶液層の厚さ（凍結前）	圧縮率	乾燥状態		湿潤状態	
		一点支持張力	耐破断張力	一点支持張力	耐破断張力
6mm	0.03	6.3	51.4	0.74	4.89
12mm	0.02	16.7	78.3	2.05	8.92
18mm	0.03	27.8	110.2	4.93	9.47

	乾燥状態		湿潤状態	
	一点支持張力	耐破断張力	一点支持張力	耐破断張力
浸漬・風乾 5 回	14.4	50.3	0.9	4.61
浸漬・風乾 10 回	27.8	110.2	4.93	9.47

（単位：N）

5

以上の結果により、本発明のコラーゲン材は、縫合に耐える優れた物性を有することが示された。

産業上の利用可能性

本発明のコラーゲン超微細線維性不織布状多層体を非線維化コ
 10 ラーゲン層で挟んだ積層体からなるからなるコラーゲン材は、コ
 ラーゲンが本来有する生化学的特性を保持しながらも、縫合可能
 な程度の物性を有するため、各種医療材料として広く使用すること
 ができる。また本発明の医用代替膜は、倫理上の問題もなく、
 安定して供給され、生体膜の欠損部分を補填する材料又は癒着防
 15 止材として術創に縫合することができる。また縫合後、生体膜が
 再生するまでの期間残存して、癒着防止効果を示す一方、徐々に
 分解吸収されるため、生体組織に長期間残存して炎症などを惹起
 することがなく、安全に使用することができる。

請 求 の 範 囲

1. コラーゲン超微細線維性不織布状多層体を非線維化コラーゲン層で挟んだ積層体からなるコラーゲン材。
- 5 2. コラーゲン超微細線維性不織布状多層体が、コラーゲン板状線維から形成されている、請求の範囲第1項記載のコラーゲン材。
3. その内部に生体内分解吸収性材料からなるシート状のメッシュ様中間材を有する、請求の範囲第1項又は2項記載のコラーゲン材。
- 10 4. コラーゲン溶液層を凍結し；凍結乾燥して微細線維化コラーゲン層とし；圧縮し；コラーゲン溶液に浸漬・風乾する工程を繰り返す；そして架橋処理に付すことを特徴とする、請求の範囲第1項記載のコラーゲン材の製造方法。
5. 架橋処理が、熱架橋処理である、請求の範囲第4項記載の方法。
- 15 6. コラーゲン超微細線維性不織布状多層体を非線維化コラーゲン層で挟んだ積層体からなるコラーゲン材を含む糸状材料。
7. コラーゲン溶液を湿式紡糸してコラーゲン糸を得；コラーゲン糸を凍結し；凍結乾燥し；コラーゲン糸を圧縮し；コラーゲン溶液に浸漬・風乾する工程を繰り返す；そして架橋処理に付すことを特徴とする、請求の範囲第6項記載の糸状材料の製造方法。
- 20 8. コラーゲン超微細線維性不織布状多層体を非線維化コラーゲン層で挟んだ積層体からなるコラーゲン材を含む医用材料。
9. その内部に生体内分解吸収性材料からなるシート状のメッシュ

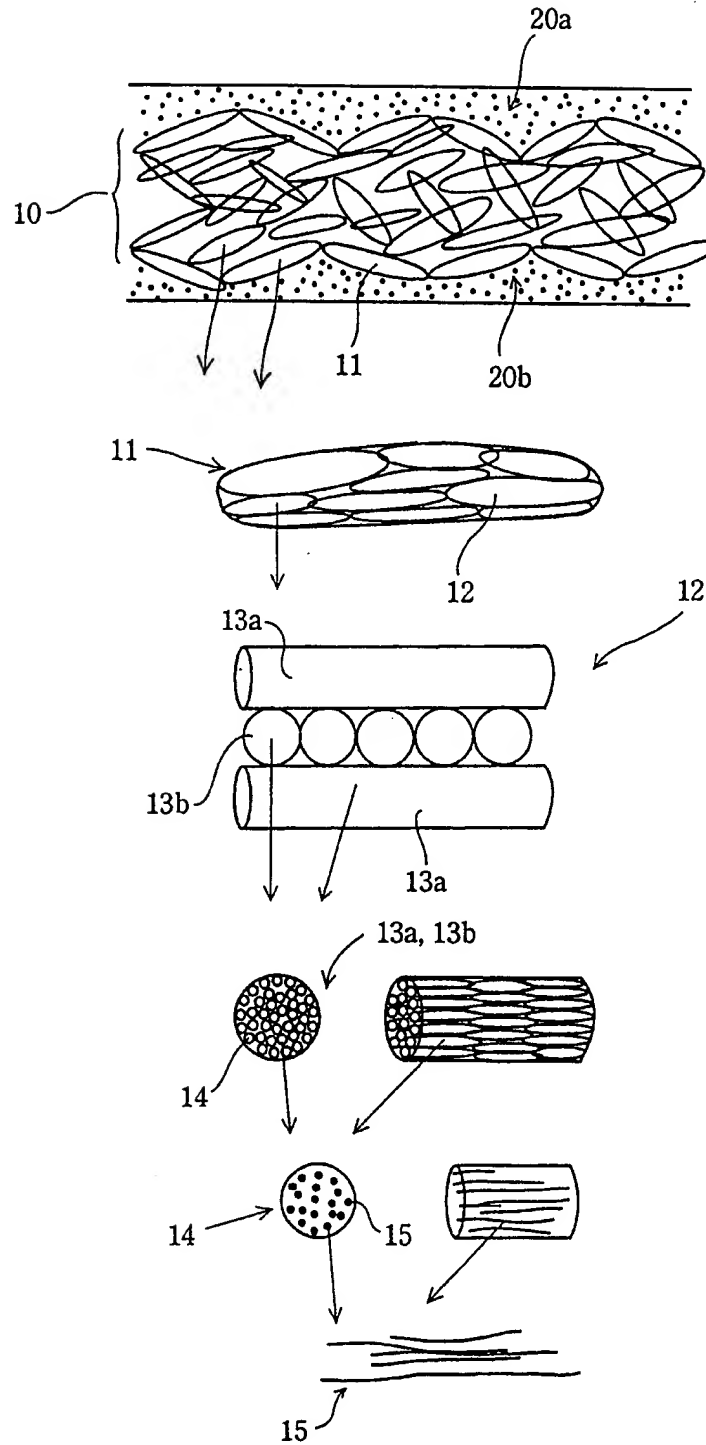
シュ様中間材を有する、請求の範囲第 8 項記載の医用材料。

10. 請求の範囲第 8 項又は 9 項記載の医用材料からなる医用代替膜。

5 11. その片面又は両面に架橋処理されたゼラチンゲル層又はヒアルロン酸層を有する、請求の範囲第 10 項記載の医用代替膜。

12. 乾燥状態で少なくとも 23 N の一点支持張力、及び少なくとも 170 N の耐破断張力、湿潤状態で少なくとも 2 N の一点支持張力、及び少なくとも 12 N の耐破断張力（厚さ 1 mm の場合）を有する、請求の範囲第 1 項記載のコラーゲン材。

第 1 図



第 2 図



第 3 図



第 4 図



第 5 図



PTO 03-435

International Publication No. WO98/22157

COLLAGEN MATERIALS AND PROCESS FOR PRODUCING THE SAME

Yasuhiko Shimizu

UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE
WASHINGTON, D.C. NOVEMBER 2002
TRANSLATED BY THE RALPH MCELROY TRANSLATION COMPANY

INTERNATIONAL PATENT OFFICE
WORLD ORGANIZATION FOR INTELLECTUAL PROPERTY

International patent published on
the basis of the Patent Cooperation Treaty
INTERNATIONAL PUBLICATION NO. WO98/22157

International Patent Classification ⁶ :	A61L 27/00
International Filing No.:	PCT/JP97/04205
International Filing Date:	November 19, 1997
International Publication Date:	May 28, 1998
Priority	
Date:	November 20, 1996
Country:	JP
No.:	Japanese Kokai Patent Application No. Hei 8 [1996]-308856
Date:	November 20, 1996
Country:	JP
No.:	Japanese Kokai Patent Application No. Hei 8 [1996]-308857
Date:	September 29, 1997
Country:	JP
No.:	Japanese Kokai Patent Application No. Hei 9 [1997]-263374
Designated States:	CA, CN, JP, KR, US, European Patents (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE)

COLLAGEN MATERIALS AND PROCESS FOR PRODUCING THE SAME

[Koragenzai oyobi sonoseiho]

Inventor and Inventor/Applicant (only for US):	Yasuhiko Shimizu [JP/JP]
---	--------------------------

Applicant (for all designated
states except US):

Tapic International Co. Ltd. [JP/JP]

Technical field

/1*

The present invention pertains to collagen materials comprising laminates wherein a multi-layered structure of ultra-fine fibrous nonwoven collagen fabric is sandwiched between non-fibrillated collagen layers, filamentous material comprising said collagen material, methods for their production, as well as medical materials comprising said collagen material, particularly medical film substitutes comprising said medical material.

Prior art

Of the various materials used as medical materials, because collagen derived from animals has superior physiological affinity and histocompatibility, the antigenicity is low, has host cell differentiation / proliferation-promoting effects and hemostatic effects, and is completely degraded and absorbed in the body, it have particularly good characteristics as matter for medical materials. Presently, for animal-derived collagens, Types I – XIX have been discovered. Of these, collagen Types I – V are used in diverse methods as medical materials. Of these, collagen Type I that is useful as an extracellular matrix is used most often. These collagens are extracted and purified from the connective tissue of various organs such as skin, bone, cartilage, tendons and viscera of animals such as cows, pigs, birds and kangaroos by acid solubilization, alkaline solubilization, neutral solubilization, enzyme solubilization, etc. At the molecular level, extracted collagens used in the past have been degraded to monomer – oligomer sizes and stored in powder form or liquid form. Because these extracted collagens are degraded to monomer – oligomer size, they become sols very quickly when they come in contact with water. For this reason, when these collagens are formed as medical materials and used, they are used by coating on the surface of synthetic polymer materials such as nylon or silicone to give a certain amount of strength during processing or extracted collagen moldings are used by applying chemical cross-linking treatments, using cross-linking agents or physical cross-linking treatments using radiation, electron beams, ultraviolet rays or heat so that they maintain their shape for a certain period of time when applied in the body. These extracted collagens are also processed in thread form and used for thread-based medical treatments. For this spinning, wet spinning methods are used.

/2

However, in the case of materials wherein collagen was combined with synthetic polymer materials, the synthetic polymer materials remained in the body as foreign bodies and tended to cause problems such as granulation formation and inflammation. Moreover, such materials could

* [Editor's note: numbers in the right margin represent pagination in the original foreign language text.]

not be used in all cells or organs. Furthermore, because properties of the collagen materials, especially tear strength, did not increase significantly even when cross-linking treatments were performed on the collagen materials, it was impossible to manufacture these into medical materials that required suturing. And, if cross-linking agents such as glutaraldehyde or epoxy were used, not only did the toxicity to the body of the cross-linking agent itself become a problem but there also was the drawback that biochemical characteristics intrinsic to collagen, particularly the cell proliferation-promoting effects, were lost. With physical cross-linking treatments, the cross-linking rate was unstable and it was not possible to confer satisfactory properties. It also was difficult to cross-link so that control of the rate of absorption in the body was possible. Meanwhile, because spun collagen also did not have satisfactory strength, it was unsatisfactory as suture thread. /3

Meanwhile, when closing surgical wounds in the performance of surgery on brain or various organs due to various diseases or trauma, it is necessary to suture and close dura mater, pericardium, pleura, peritoneum or chorion. Shortened portions arise due to the suture seam or the surgical wound cannot be completely closed because the membrane has been partially excised and defects frequently occur in the membrane. If such defects are left alone, organs such as brain, heart, lung or intestine herniate from the membrane defects causing serious problems or water or air leaks out from the organ or from around the organ and the surgical wound does not heal. Moreover, because the organs undergo adhesion to surrounding tissues, tissues are damaged and favorable prognoses are not obtained. For this reason, in the past, as medical membrane substitutes that could be used as a filler for these defects, lyophilized human dura mater harvested from cadavers or porous, drawn polytetrafluoroethylene film materials (EPTFE) (tissue gortex, registered trademark), polypropylene mesh, Teflon sheets, Dacron sheets, etc. have been used. At present, copolymers of lactic acid with ϵ -caprolactone (50:50) are being developed. Methods using autologous fascia lata and autologous pericardium, skin or muscle continue to be used.

However, the use of human dura mater not only has the difficulty that there is a danger of it causing adhesions between the filled human dura mater and the cerebral parenchymal tissue and inducing post-surgical seizures, but there are ethical issues such as harvesting from human cadavers and the problem that the supply is very limited. Furthermore, recently, the occurrence of Creutzfeldt-Jakob Disease (CJD) in patients in whom dura mater had been transplanted has been reported (Noshinkei Geka, 21 (2): 167 – 170, 1993). In Japan, human dura mater is not being used. It is known that EPTFE materials, etc. frequently cause post-surgical complications; for example, because they are not degraded in the body and remain as foreign bodies, they tend to cause infections or when they come in contact with tissues in the body, the cells of the tissues undergo fatty degeneration. Copolymers of lactic acid with ϵ -caprolactone are degradable in the /4

body and after use in the body, are gradually degraded. But it takes a long time, almost 2 years, until fully degraded and absorbed. For this reason, it again remains in the body for awhile as a foreign body. During the degradation process, it can induce inflammation in the tissue and sometimes forms granulomas. Because these copolymers use (L)-form lactic acid as a monomer, the lactic acid sometimes crystallizes in the copolymer and induces inflammation. Furthermore, neither EPTFE nor lactic acid - ϵ -caprolactone copolymers have regeneration-promoting effects. Methods that use autologous fascia lata are significant burdens on both patient and physician.

The above EPTFE, polypropylene mesh (Marlex), dried human dura mater, glutaraldehyde (GA)-treated bovine pericardium have been used in the past for pericardial filler material. But EPTFE and dried human dura mater have the drawbacks described above. Polypropylene mesh causes strong adhesions to the heart. Because GA-treated bovine pericardium is not degraded and absorbed in the body and remains, it undergoes deterioration due to calcification. Complications of interstitial pneumonia due to immune reactions to bovine pericardium have been observed. /5

To reduce leakage of air from surgical sites after lung surgery, polyglycolate nonwoven fabric or bovine pericardium is used as a pleural filler material or for autosuturing. But polyglycolate causes strong adhesions and because it is not transparent, it is difficult to use for autosuturing. Bovine pericardium has the drawbacks described above.

For the above reasons, the development of collagen materials that have collagen as starting material without using synthetic polymer materials, have the property of suturing being possible while maintaining biochemical characteristics intrinsic to collagen, and that can maintain their shape for a certain period after use in the body, a method for their production and medical materials based on these, for example, peripheral neural sheaths, artificial spinal cord, artificial esophagus, artificial trachea, artificial blood vessels, artificial valves, artificial medical film substitutes such as dura mater substitute, artificial ligaments, artificial tendons, surgical suture thread, surgical filler material, surgical reinforcing material, wound protecting material, artificial skin, or artificial cornea has been desired. Among various medical materials, the development of materials for which there were no ethical issues and that could be supplied stably, and after use in the body, which prevented post-surgical adhesion of the surgical wound, there was no concern of infection, which did not cause tissue degeneration, the rate of degradation after use could be controlled and which had regeneration-promoting effects on physiological membranes, particularly, dura mater, pericardium, pleura, peritoneum or chorion and that could be used as medical film substitutes was also strongly desired in clinical settings.

Presentation of the invention

Upon diligent research to solve the above problems, the inventors discovered that

collagen materials comprising laminates wherein ultra-fine fibrous nonwoven collagen fabric multi-layered structures were sandwiched between non-fibrillated collagen layers had particularly good characteristics as medical materials and had the property of suturing being possible, and completed this invention. That is, this invention pertains to collagen materials comprising laminates wherein ultra-fine fibrous nonwoven collagen fabric multi-layered structures are sandwiched between non-fibrillated collagen layers. This invention also pertains to a method for producing the above collagen materials characterized by the fact that the collagen solution layers are frozen; lyophilized to make ultra-fine fibrous collagen layers; compressed; processes of immersing in collagen solution / air-drying are repeated; and are then subjected to cross-linking treatment. This invention furthermore pertains to filamentous material containing collagen material comprising laminates wherein ultra-fine, fibrous nonwoven collagen fabric multi-layered structures are sandwiched between non-fibrillated collagen layers, and a method for producing the above filamentous material characterized by the fact that collagen filaments are obtained by wet spinning of collagen solution; the collagen filaments are frozen; lyophilized; the collagen filaments are compressed; processes of immersing in collagen solution / air-drying are repeated; and then the filaments are subjected to a cross-linking treatment. This invention moreover pertains to medical materials comprising collagen materials comprising laminates wherein ultra-fine, fibrous nonwoven collagen fabric multi-layered structures are sandwiched between non-fibrillated collagen layers, medical film substitutes comprising said medical materials, particularly medical film substitutes having cross-linked gelatin gel layers or hyaluronic acid layers on one or both sides.

Brief description of the figures

Figure 1 shows the structure of collagen materials of this invention.

Figures 2 – 5 are electron micrographs showing the forms of various fibers of the collagen materials of this invention.

/7

Optimal form for implementing the invention

Figure 1 is a diagram of the structure of collagen materials of this invention. In this collagen material, ultra-fine fiber 15 of about 5 nm diameter comprising several collagen molecules forms the basic unit and forms microfibers 14 of about 50 nm diameter. These in turn form fine fibers 13a and 13b of about 2 μ m diameter. As shown in the figure, fine fibers 13a and 13b are laid alternately as warp and weft threads to form fiber 12 of about 6 μ m diameter. These are laid on each other in a coaxial direction to form disc-shaped fibers 11 of about 20 – 50 μ m diameter. Then, these disc-shaped fibers 11 form ultra-fine fibrous nonwoven collagen fabric multi-layered structure 10. On the outside of this are non-fibrillated collagen layers 20a and 20b

wherein collagen molecules are dispersed as monomers – oligomers. Collagen molecules are also intercalated between the disc-shaped fibers of this nonwoven fabric multi-layered structure.

Figure 2 is an electron micrograph of a cross-section of collagen material of this invention.

Figure 3 shows fiber 12 formed by fine fibers 13a and 13b being laid alternately on each other.

Figure 4 shows ultra-fine fibers 15 and fine fiber 14 that is formed with these as the basic units.

Figure 5 shows ultra-fine fiber 15.

For collagens to be used as starting materials for the collagen materials of this invention comprising laminates wherein ultra-fine fibrous nonwoven collagen fabric multi-layered structures are sandwiched between non-fibrillated collagen layers, various kinds of collagen that have been used in the past, preferably neutral solubilized collagens, acid-solubilized collagens, base-solubilized collagens, or enzyme-solubilized collagens can be used. Of these, enzyme-solubilized collagens are non-soluble collagens that have been treated with enzymes (for example, pepsin, trypsin, chymotrypsin, papain, pronase, etc.). Because telopeptide portions of strong antigenicity in the collagen molecules are removed and antigenicity is reduced by these treatments, they are particularly favorable. The origins of these collagens are not particularly limited. Generally, collagen Type I or mixed Type I and Type III collagen obtained by extraction and purification from skin, bones, cartilage, tendons, or organs of animals such as cows, pigs, rabbits, sheep, kangaroos, or birds can be used. /8

If the collagen materials of this invention having the ultra-fine fiber structure described above are compared with materials of the past comprising only non-fibrillated collagen of amorphous structure wherein collagen molecules are dispersed as monomers – oligomers that have been used for various medical materials, the former not only has excellent characteristics, especially excellent tear strength, compared to the latter while maintaining intrinsic effects of collagen on the body, but the absorption rate in the body has also been satisfactorily prolonged. Moreover, filamentous materials comprising the collagen materials of this invention are thread-shaped forms of the collagen material comprising laminates wherein ultra-fine fibrous nonwoven collagen fabric multi-layered structures have been sandwiched between non-fibrillated collagen layers. Medical materials comprising the collagen materials of this invention are those in which the collagen material comprising laminates wherein ultra-fine fibrous nonwoven collagen fabric multi-layered structures have been sandwiched between non-fibrillated collagen layers have been manufactured into various medical materials. For forms of medical materials, membranes, tubes, bags and lumps can be cited. Medical film substitute can be cited as a particular use of these medical materials. Medical film substitutes having a cross-linked gelatin gel layer or hyaluronic acid layer on one or both surfaces can be cited as particularly ideal. In this case, its thickness is preferably about 0.1 – 5 mm. /9

Due to the cell adhesion- and proliferation-inhibiting effects of gelatin, the gelatin gel layer that surfaces of the medical film substitutes of this invention can have acts as an adhesion-prevention layer for preventing extension of cells from surrounding body tissues at sites where prevention of adhesions is necessary. Hyaluronic acid improves the stability of collagen and has the ability to prevent adhesions. With the medical film substitutes of this invention, because the gelatin gel layer or hyaluronic acid layer must remain for about 3 – 4 weeks without being degraded or absorbed after being applied in the body, this gelatin gel layer or hyaluronic acid layer is also cross-linked.

To prepare the collagen materials of this invention that comprise laminates wherein ultra-fine fibrous nonwoven collagen fabric multi-layered structures are sandwiched between non-fibrillated collagen layers, a ca. 1 N hydrochloric acid solution (pH ca. 3) of extracted and purified collagens like the above (collagen concentration is preferably about 0.5 – 3 wt%, especially about 1 wt%) is prepared and collagen hydrochloride solution layers are formed in containers such as Petri dishes by the usual methods such as pouring so that the liquid layer has a desired uniform thickness. The thickness of the collagen hydrochloride solution layer is determined according to the use of the collagen materials of this invention. For example, when being used as medical film substitute for dura mater, preferably it is about 1 – 5 cm, especially about 1 – 3 cm. This is frozen preferably at about $-10 \sim -196^{\circ}\text{C}$, especially about -20°C for at least about 6 hours, preferably about 6 – 48 hours, especially about 24 hours. By freezing, very fine ice forms between the collagen molecules that are dispersed in the hydrochloride solution, the collagen hydrochloride solution undergoes layer separation and the collagen molecules become microfibers by re-arrangement. If the freezing time is less than 6 hours, microfiberization of the collagen molecules is insufficient because the collagen hydrochloride solution does not freeze sufficiently and satisfactory properties are not obtained. Next, the above frozen collagen hydrochloride solution is lyophilized under vacuum preferably at about $-40 \sim -80^{\circ}\text{C}$, especially about -80°C , preferably for about 24 – 48 hours, especially about 48 hours. By lyophilizing, the very fine ice between the collagen molecules is vaporized and with ultra-fine fibers of collagen molecules as the basic unit, the nonwoven collagen fabric made of the microfibers, fine fibers, fibers and disc-shaped fibers described above is obtained.

Next, the nonwoven collagen fabric layer obtained above is compressed to a uniform thickness using a press. By compressing, the period that the collagen materials of this invention remain in the body is controlled. For example, when a 1 wt% collagen hydrochloride solution is used, compression is performed with compression ratio in the range of 30 – 60 at a pressure of, for example, 200 kg/cm^2 for 15 seconds. Next, the collagen layer after compression is immersed in a collagen hydrochloride solution and air-dried. This immersing / air-drying process is repeated 5 – 20 times. The collagen hydrochloride solution used here is a solution of

non-fibrillated collagen containing about 0.5 – 3 wt%, especially about 2 wt% of extracted, purified collagen in about 1 N hydrochloric acid in which the collagen molecules are dispersed as monomers – oligomers. By immersing the collagen layer after compression in this collagen solution, the collagen molecules dispersed in the collagen solution intercalate between the disc-shaped fibers of the nonwoven collagen fabric layer, thereby exhibiting an anchoring effect. In addition to conferring strength, stability to water is also increased. 5 – 20 times is appropriate for the repetitions of this immersing / air-drying process. Depending on the use of the collagen material of this invention, it can be set as desired within this range. Next, the collagen layer after immersing / air-drying is cross-linked to obtain the collagen material of this invention comprising laminates wherein ultra-fine fibrous nonwoven collagen fabric multi-layered structures are sandwiched between non-fibrillated collagen layers. By cross-linking, the medical material comprising collagen material of this invention is adjusted so that it remains for a desired period after application in the body. Performing heat dehydration cross-linking for which the degree of cross-linking is easy to control and the effect of the cross-linking agent on the body is not problematic is favorable. For heat dehydration cross-linking, the collagen layer after immersing / air-drying obtained above is heated under vacuum preferably at about 105 – 150°C, especially about 140°C and preferably for about 6 – 48 hours, especially about 24 hours. At less than about 105°C, satisfactory cross-linking reaction does not occur. If the temperature exceeds about 150°C, the collagen denatures. Next, if necessary, the collagen material of this invention obtained in the above process is sterilized by ethylene oxide gas treatment or ultraviolet ray or γ -ray irradiation. Collagen material of this invention manufactured as above has, in a dry state, a one-point support tension of at least 23 N, especially above 45 N and rupture resistance tension of at least about 170 N, especially above 230 N. In the wet state, it has a one-point support tension of at least 2 N, especially above 6 N and a rupture resistance tension of at least 12 N, especially above 23 N (in the case of a collagen material of 0.74 g/cm³ specific gravity and 1 mm thickness). Because strength is superior to previous collagen materials, it can be manufactured into various kinds of medical materials and suturing is also possible. And when applied in the body, it can maintain its shape for about 3 – 8 weeks. It also retains the characteristics intrinsic to collagen as a medical material.

The collagen materials of this invention can be used as surgical suture thread because they have excellent strength. Filamentous material comprising collagen materials of this invention can be manufactured in the following manner. A ca. 1 N hydrochloric acid solution (pH ca. 3) of extracted, purified collagen is prepared (collagen concentration is preferably about 0.5 – 3 wt%, especially about 1 wt%). This is wet-spun by extruding from a nozzle with a pore of preferably about 50 – 300 μ m, especially about 100 μ m into a solidifying bath. The collagen thread obtained is frozen and lyophilized under the same conditions as above and collagen thread

is formed. Next, this collagen thread is compressed under the same conditions as above. Then, it is immersed in collagen hydrochloride solution (about 2 wt%, about 1 N hydrochloric acid) / air-dried. This process is repeated 5 – 20 times. Next, by subjecting this to cross-linking under the same conditions as above, filamentous material comprising the collagen materials of this invention can be obtained.

When manufacturing the collagen materials of this invention prepared as above into medical film substitutes that have a cross-linked gelatin gel layer or hyaluronic acid layer on one or both sides, in the case of gelatin gel layers, a gelatin gel layer is formed using an aqueous gelatin solution preferably of about 2 – 70 wt% and especially about 60 wt%. When using an aqueous gelatin solution of about 60 wt%, the gelatin gel layer is formed so that when wet, it is preferably about 0.1 – 5 mm, especially 1 mm and when dry, it is preferably about 0.06 – 3 mm, especially about 0.6 mm. The gelatin gel layer can be formed by any method such as coating or immersion. For example, an aqueous gelatin solution is poured into a container such as a Petri dish to have the necessary thickness. Collagen material of this invention obtained as above is placed on this and left and the gelatin is allowed to gel. When forming gelatin gel layers on both sides, the same procedure is performed for the other surface and gelatin gel layers are formed on both sides. /13

Next, the collagen material on which gelatin gel layers have been formed on one or both sides obtained in this manner is subjected to the 2nd cross-linking treatment. By performing cross-linking, the degradation and absorption rate for the gelatin gel layer is controlled. For cross-linking methods, heat dehydration cross-linking is preferable for the same reasons as described above. To make the gelatin gel layer persist for about 3 – 4 weeks after application in the body, the collagen material on which the above gelatin gel layer has been formed is subjected to heat dehydration cross-linking under vacuum preferably at about 105 – 150°C, especially about 140°C preferably for about 6 – 48 hours, especially about 24 hours. With less than about 105°C, satisfactory cross-linking reaction does not occur. If the temperature exceeds about 150°C, the collagen denatures.

The cross-linked gelatin gel layer thus formed has the role of preventing the collagen portion of this medial film substitute from adhering to surrounding tissue until the respective physiological membrane is regenerated. During the ca. 3 – 4 weeks until physiological membrane extends and is regenerated from the edge of the membrane defect and closes the membrane defect, the gelatin gel layer remains without being degraded or absorbed.

When forming a hyaluronic acid layer, using an aqueous sodium hyaluronate solution preferably of about 0.5 – 2.0 mg/mL, especially about 1.0 mg/mL, an aqueous sodium hyaluronate solution layer is formed on one or both sides of the collagen material of this invention obtained as above by methods such as coating or immersion and is made into a /14

hyaluronic acid layer by air-drying this aqueous solution layer. So that the hyaluronic acid layer can persist without being degraded or absorbed for the ca. 3 – 4 weeks until physiological membrane extends and is regenerated from the edge of the membrane defect to be repaired, and closes the membrane defect, the aqueous sodium hyaluronate solution layer is formed so that it has a thickness of preferably about 0.5 – 4.0 mm, especially about 2 mm when wet and preferably about 0.1 – 2.0 mm, especially about 1.0 mm when dry (in the case of a ca. 1.0 mg/mL aqueous solution). To fix the hyaluronic acid on the surface of the collagen material and make a hyaluronic acid layer, the 2nd cross-linking treatment is performed. In the case of hyaluronic acid, performing the cross-linking treatment with water-soluble carbodiimide (WSC) is preferable. In this case, it is preferable that WSC is mixed beforehand into the aqueous sodium hyaluronate solution and then applying on the collagen material along with the sodium hyaluronate, cross-linking the carboxyl groups of the collagen and the amino groups of the hyaluronic acid. The concentration of WSC to be included in the aqueous sodium hyaluronate solution is preferably about 5 – 20 mg/mL, especially about 8 – 15 mg/mL. This aqueous solution containing sodium hyaluronate and WSC is prepared, stirred thoroughly, coated on both or one surface of the collagen material so that the thickness is preferably about 1 mm and air-dried to form the hyaluronic acid layer.

Because the collagen materials of this invention prepared as above have superior characteristics, especially superior tear strength, compared to previous extracted collagen materials, they can be manufactured into various medical materials alone without being laminated to synthetic polymer materials, etc. and can also be used for suture. The collagen materials of this invention also are not solubilized immediately when applied in the body but can maintain their shape for about 3 – 8 weeks. For these reasons, the collagen materials of this invention can also be used for various medical materials by manufacturing into forms such as membranes, tubes, bags or lumps according to use. For example, they can promote the recovery and regeneration of injured physiological tissues by being used for peripheral neural tubes, artificial spinal cord, artificial esophagus, artificial trachea, artificial blood vessels, artificial valves, artificial medical film substitutes such as dura mater substitute, artificial ligaments, artificial tendons, surgical suture thread, surgical filler material, surgical reinforcing material, wound protecting material, artificial skin or artificial cornea. Or, they can be used for compression hemostasis material or three dimensional media in cell culture.

By filling in membrane defects after various kinds of surgeries, the medical film substitutes comprising medical materials of this invention obtained as above can be used for preventing adhesions of the membrane defect with organs and surrounding tissues. With the medical film substitutes of this invention, medical film substitutes with a gelatin gel layer or hyaluronic acid layer formed on one or both sides are used so that the cross-linked gelatin gel

layer or hyaluronic acid layer faces the side in contact with surrounding tissue where adhesion must be prevented. When using this medical film substitute as a pericardial membrane substitute, membrane substitutes with gelatin gel layer or hyaluronic acid layers formed on both sides are used. When using it as a pleural, peritoneal or chorionic membrane substitute, membrane substitutes with a gelatin layer or hyaluronic acid layer formed on one side is used so that the gelatin gel layer or hyaluronic acid layer faces the side in contact with the surrounding tissue. When using it as a membrane substitute for dura mater, both membrane substitutes with a gelatin gel layer or hyaluronic acid layer formed on one or both sides can be used. When using a membrane substitute with a gelatin gel layer or hyaluronic acid layer formed on one side, it is used so that the gelatin gel layer or hyaluronic acid layer faces the side in contact with the cerebral parenchyma. In addition to be above uses, it can also be used as a reinforcing material in suturing blood vessels, digestive tract, trachea, urinary tract, bladder, mucosa or periodontal membrane.

/16

As the filler material for defects in physiological membranes mentioned above, the medical film substitutes of this invention can be used as membrane substitutes for dura mater, pericardium, pleura, peritoneum or chorion. If this membrane substitute is applied on a surgical wound, persisting physiological membrane such as dura mater, pericardium, pleura, peritoneum or chorion surrounding the surgical wound extends from the point of contact with this membrane substitute with the collagen portion of this membrane substitute as the site of regeneration. Meanwhile, adhesions are prevented at places where the body tissue is in contact with the gelatin gel layer or hyaluronic acid layer because infiltration / expansion of cells is prevented. Ultimately, the defect is closed with regenerated physiological membrane and this membrane substitute is degraded and absorbed by the body and completely disappears.

As described above, the collagen materials and medical materials comprising the collagen materials of this invention, especially medical film substitutes have superior tear strength to previous collagen materials and medical materials comprising these. When this medical material is used, for example, for an artificial bladder, more strength is sometimes required. For this reason, when necessary, the collagen materials and medical materials comprising the collagen materials of this invention can have a sheet of mesh-like intermediate material comprising physiologically degradable and absorbable material inside. For physiologically degradable and absorbable materials, polyglycolate, polylactate, copolymers of glycolic acid and lactic acid, polydioxanone, copolymers of glycolic acid and trimethylene carbonate, and mixtures of polyglycolate and polylactate can be cited. Sheets of mesh-like intermediate material comprising these materials are in the form of, for example, mesh sheets, woven fabric, nonwoven fabric or sheets with punched holes of, for example, about 50 – 2,000 μm pore size and their thickness is

/17

about 100 – 2,000 μm . The pore size and thickness of the mesh-like intermediate material can be varied as appropriate according to the use.

To manufacture such collagen material having a sheet of mesh-like intermediate material comprising physiologically degradable and absorbable material inside, when forming the ultra-fine fibrous nonwoven collagen fabric multi-layered structure, the collagen hydrochloride solution layer is subjected to subsequent processes such as freezing and lyophilizing with the sheet of mesh-like intermediate material mentioned above immersed in the hydrochloric acid solution of collagen.

This invention is explained with the application examples below.

Application Example 1

Using collagen derived from pig skin, a 1 N hydrochloric acid solution of 1 wt% collagen was prepared and poured into Petri dishes to give collagen solution layers of 6, 12 and 18 mm thickness, respectively. These were frozen for 24 hours at -20°C . Next, they were lyophilized for 24 hours at -80°C . Then, using a press, they were heat-compressed at a pressure of 200 kg/cm^2 at room temperature for 15 seconds and were made into layers of about 0.2, 0.3 and 0.5 mm, respectively. A 1 N aqueous hydrochloric acid solution of 2 wt% collagen having the same collagen as above as starting material was prepared and the compressed collagen layers obtained above were immersed in the collagen solution and air-dried. This immersion / air-drying process was repeated 5 times or 10 times. Then, under vacuum, they were subjected to heat cross-linking treatment for 24 hours at 140°C to obtain collagen materials of this invention.

/18

For the collagen materials of this invention prepared as above, one-point support tension and rupture resistance tension were measured in the dry state and wet state by the methods described below.

Strip-shaped test pieces of 15 x 40 mm size were made. Using the following methods, a uniform tension was applied at the B of ISO rate (5 mm/min) in the longitudinal direction of the test piece using a digital push-pull gauge (CPU gauge made by Aikoh Engineering) at a 25°C 50% humidity constant temperature, constant humidity chamber and the maximum tension until failure was measured for both the dry state and the wet state (hydrated for 1 minute in 37°C physiological saline or hydrated for 24 hours in room temperature physiological saline).

1. One-point support tension

A site 5 mm to the inside of the center of one end of the test piece was sutured and fixed with thread (4-O Prolene or 2 Dexon). The other end was clamped uniformly with a clip and tension was applied.

2. Rupture resistance tension

Both ends of the test piece were clamped uniformly with clips and tension was applied.

The results are given below.

/19

コラーゲンの塩酸溶液層 の厚さ（凍結前）①	圧縮率 ②	乾燥状態 ③		湿潤状態 ④	
		一点支持 張力 ③a	耐破談 張力 ③b	一点支持 張力 ④a	耐破談 張力 ④b
6mm	0.03	6.3	51.4	0.74	4.89
12mm	0.02	16.7	78.3	2.05	8.92
18mm	0.03	27.8	110.2	4.93	9.47

	乾燥状態 ③		湿潤状態 ④	
	一点支持張力 ③a	耐破断張力 ③b	一点支持張力 ④a	耐破断張力 ④b
③ 浸漬・風乾 5 回	14.4	50.3	0.9	4.61
④ 浸漬・風乾 10 回	27.8	110.2	4.93	9.47

⑦ (単位：N)

- Key: 1 Thickness of collagen hydrochloride solution layer (before lyophilization)
 2 Compression rate
 3 Dry state
 3a One-point support tension
 3b Rupture resistance tension
 4 Wet state
 4a One-point support tension
 4b Rupture resistance tension
 5 Immersion / air-drying 5 times
 6 Immersion / air drying 10 times
 7 (Units: N)

The above results show that the collagen materials of this invention have superior characteristics that can tolerate suturing.

Possibilities for industrial utilization

Because the collagen materials of this invention comprising laminates wherein ultra-fine fibrous nonwoven collagen fabric multi-layered structures have been sandwiched between non-fibrillated collagen layers have the property of suturing being possible while maintaining biochemical characteristics intrinsic to collagen, they can be used widely for various kinds of medical treatment materials. Medical film substitutes of this invention also do not have ethical issues, can be supplied stably and can be sutured to surgical wounds as material for filling defects in physiological membranes or as material for preventing adhesions. After suturing, they remain until the physiological membrane is regenerated and exhibit adhesion-preventing effects. Meanwhile, because they are gradually degraded and absorbed, they do not cause inflammation by persisting in body tissues for long periods and can be used safely.

Claims

/20

1. Collagen materials comprising laminates wherein ultra-fine fibrous nonwoven collagen fabric multi-layered structures have been sandwiched between non-fibrillated collagen layers.

2. Collagen materials described as in Claim 1 wherein the ultra-fine fibrous nonwoven collage fabric multi-layered structure is formed from disc-shaped collagen fibers.

3. Collagen materials described as in Claim 1 or 2 that have sheets of mesh-like intermediate material comprising physiologically degradable and absorbable material inside.

4. Method for producing the collagen materials described as in Claim 1 characterized by the fact that a collagen solution layer is frozen; and lyophilized to make an ultra-fine fibrillated collagen layer; is compressed; processes of immersion in a collagen solution / air-drying are repeated; and it is subjected to cross-linking treatment.

5. Method described as in Claim 4 wherein the cross-linking treatment is heat cross-linking.

6. Filamentous materials containing collagen materials comprising laminates wherein ultra-fine fibrous nonwoven collagen fabric multi-layered structures have been sandwiched between non-fibrillated collagen layers.

7. Method for producing the filamentous materials described as in Claim 6 characterized by the fact that a collagen solution is wet-spun to obtain collagen thread; the collagen thread is frozen; and lyophilized; the collagen thread is compressed; processes of immersion in a collagen solution / air-drying are repeated; and it is subjected to cross-linking treatment.

8. Medical materials containing collagen materials comprising laminates wherein ultra-fine fibrous nonwoven collagen fabric multi-layered structures have been sandwiched between non-fibrillated collagen layers.

9. Medical materials described as in Claim 8 that have sheets of mesh-like intermediate material comprising physiologically degradable and absorbable material inside.

/21

10. Medical film substitutes comprising medical materials described as in Claim 8 or 9.

11. Medical film substitutes described as in Claim 10 that have a cross-linked gelatin gel layer or hyaluronic acid layer on one or both sides.

12. Collagen materials described as in Claim 1 that have a one-point support tension of at least 23 N and a rupture resistance tension of at least 170 N in the dry state and a one-point support tension of at least 2 N and a rupture resistance tension of at least 12 N in the wet state (when thickness is 1mm).

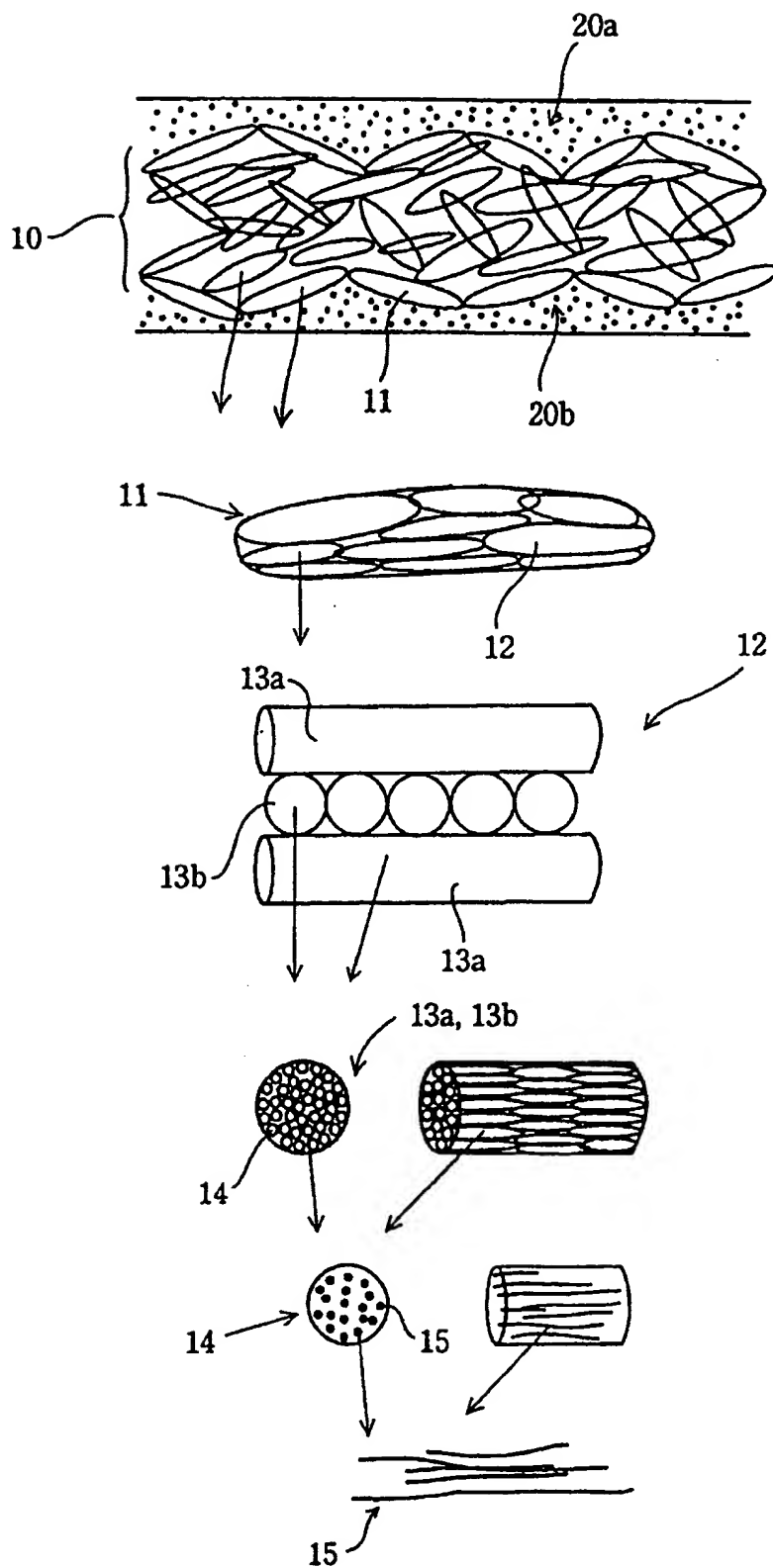


Figure 1



Figure 2



Figure 3



Figure 4



Figure 5